

ELECTRICALLY CONDUCTIVE POLYMERS CAPABLE OF BEING COVALENTLY GRAFTED ON BY LIGHT, METHOD FOR OBTAINING SAME AND USES AS SUPPORTS IN PROBES FOR SPECIFIC IDENTIFICATION IN ELECTRONIC BIOSENSORS

Patent number: FR2798146
Publication date: 2001-03-09
Inventor: COSNIER SERGE
Applicant: UNIV JOSEPH FOURIER (FR)
Classification:
- **International:** C25B3/10; C08G73/06; G01N33/543; G01N27/327; G01N27/414; C12Q1/68; C07D207/325
- **European:** C07C235/84; C07D207/32C3; C07D207/32C4; C07D209/16; C08G61/12D; C12Q1/00B2; G01N33/545
Application number: FR19990015022 19991129
Priority number(s): FR19990015022 19991129; FR19990010535 19990812

Also published as:



WO0112699 (A1)
EP1203047 (A1)

Report a data error here

Abstract not available for FR2798146

Abstract of corresponding document: **WO0112699**

The invention concerns inexpensive novel electrically conductive polymers capable of being covalently grafted on by light, whereon specific identification probes can easily be grafted having an optimal capacity for reacting with target analytes (DNA/cDNA, PNA/cPNA, enzyme/substrate, Antibody/Antigen). Said electrically conductive polymers capable of being covalently grafted on by light are, for example, poly (pyrrole-benzophenone), the benzophenone forming sites for light-induced covalent grafting. The invention also concerns monomers and oligomers constituting said novel electrically conductive polymers capable of being covalently grafted on. The invention further concerns the method for producing them and electronic biosensors comprising said electrically conductive polymer capable of being covalently grafted on by light and/or rendered capable of light-induced covalent grafting by probes for analysis of biomolecules.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 798 146

②1 N° d'enregistrement national : 99 15022

⑤1 Int Cl⁷ : C 25 B 3/10, C 08 G 73/06, G 01 N 33/543, 27/327,
27/414, C 12 Q 1/68, C 07 D 207/325

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 29.11.99.

③0 Priorité : 12.08.99 FR 09910535.

⑦1 Demandeur(s) : UNIVERSITE JOSEPH FOURIER —
FR.

⑦2 Inventeur(s) : COSNIER SERGE.

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 09.03.01 Bulletin 01/10.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : BEAU DE LOMENIE.

⑤4 ELECTROPOLYMERES PHOTOGREFFABLES, LEUR PROCEDE D'OBTENTION ET LEURS APPLICATIONS
COMME SUPPORTS DE SONDAS DE RECONNAISSANCE SPECIFIQUE DANS DES BIOCAPTEURS
ELECTRONIQUES.

⑤7 L'invention concerne de nouveaux électropolymères
photogreffables économiques, sur lesquels peuvent être
aisément greffées des sondes de reconnaissance spéci-
fiques ayant une capacité optimale de réaction avec des ana-
lytes cibles (ADN/ ADN_c, APN/ APN_c, enzyme/ substrat,
Anticorps/ Antigène).

Ces électropolymères photogreffables sont e. g. des
poly (pyrrole-benzophénone). La benzophénone forme des
sites de photogreffage.

L'invention vise également les mono et oligomères
constitutifs de ces nouveaux électropolymères photogreffa-
bles.

Leur procédé de fabrication est un autre objet de l'inven-
tion de même que les biocapteurs électroniques compren-
nant ces électropolymères photogreffables et/ ou
photogreffables par des sondes pour l'analyse de biomolé-
cules.

FR 2 798 146 - A1



Le domaine de l'invention est celui des électropolymères et en particulier de leur application comme matériaux constitutifs de biocapteurs et de capteurs électroanalytiques.

La présente invention concerne des polymères obtenus par électropolymérisation également dénommés électropolymères, ainsi que leur procédé de préparation. Les monomères et/ou oligomères impliqués dans ce procédé sont également compris dans la présente invention. Cette dernière vise également l'utilisation de ces électropolymères comme supports d'ancrage de sondes de reconnaissance spécifique faisant partie de biocapteurs ou de capteurs électroanalytiques e.g. : (micro)électrodes, capteurs à transistor à effet de champ, biopuces, semi-conducteurs, fibres optiques conductrices...

La combinaison des propriétés de reconnaissance moléculaire spécifique voire stéréospécifique des macromolécules biologiques avec l'extrême sensibilité de capteurs optiques, électrochimiques ou gravimétriques a conduit à l'émergence d'une nouvelle génération d'outils analytiques : les biocapteurs. Depuis trois décennies, le développement des biocapteurs connaît une expansion majeure en raison de leurs potentielles applications industrielles dans le domaine de l'environnement (dosage in situ de polluants) et de l'analyse biomédicale (biocapteur portable ou à usage unique, remplacement des tests ELISA). Récemment, l'essor des technologies en microélectronique a offert de nouvelles opportunités pour la miniaturisation des biocapteurs. Les objectifs principaux sont les biocapteurs implantables ou l'association de plusieurs biocapteurs afin d'obtenir simultanément des informations sur plusieurs analytes. Ainsi, des microcapteurs peuvent être fabriqués par immobilisation de biomolécules à la surface d'une large variété de microtransducteurs tels que les multiplots de microélectrode, les microélectrodes interdigités ou les transistors à effet de champ.

Ces biomolécules (oligo- ou polynucléotides-ADN-ARN, enzymes, anticorps, antigènes, Acides Nucléiques Peptidiques, oligo ou polypeptides) se comportent comme des sondes de reconnaissance spécifique, par exemple par interaction affine de substances biologiques cibles à analyser. La référence à la biologie pour qualifier les molécules concernées n'est pas exclusive d'autres molécules analogues aux molécules d'origine biologique stricto sensu, mais fabriquées par voie chimique synthétique (e.g. chimères).

La fabrication de microbiocapteurs est actuellement l'enjeu d'une âpre compétition internationale, la réalisation de biopuces pour le séquençage de l'ADN étant la parfaite illustration. L'élaboration de plusieurs milliers de "spots" d'oligonucléotides différents à des positions parfaitement localisées sur un support

plan peut être utilisée pour identifier et quantifier des ADN ou ARN fonctionnalisés par des marqueurs fluorescents.

Toutefois, un verrou technologique demeure dans l'élaboration des microbiocapteurs. En effet, l'immobilisation stable, reproductible et spatialement contrôlée de sondes de reconnaissance spécifique (par exemple d'oligonucléotides, de polyacide nucléiques peptidiques ou de protéines) avec rétention totale de leurs propriétés biologiques reste un problème crucial. Effectivement, la plupart des procédures conventionnelles d'immobilisation de sondes e.g. protéiques, comme la réticulation, le greffage covalent ou le piégeage dans des gels ou des membranes souffre d'une faible reproductibilité et d'une mauvaise résolution spatiale.

D'autres approches d'immobilisation de sondes par exemple protéiques, ont été développées à partir de technologies conventionnelles d'impression comme le "screen printing" et le "ink-jet deposition" permettant une localisation précise de la protéine. Toutefois, l'immobilisation par piégeage de la protéine peut réduire l'accessibilité de cette dernière et donc diminuer l'efficacité des interactions spécifiques du type oligonucléotides complémentaires, anticorps-antigène ou enzyme-substrat.

Plus récemment, une autre méthode a mis en jeu le dépôt contrôlé de microvolumes (5nl) contenant la protéine à des emplacements précis. Dans cette approche, les problèmes rencontrés sont des problèmes d'évaporation nécessitant de travailler dans des pièces à humidité contrôlée et des problèmes de contamination d'un dépôt à un autre.

Il est également connu de recourir à la photolithographie de groupes photoactivables pour immobiliser des biomolécules sur des supports compris dans des microtransducteurs de biocapteurs.

C'est ainsi que l'article de L.F. Rozsnyai, D.R. Benson, S.P.A. Fodor et P.G. Schultz, *Angew, Chem. Int. Ed. Engl.* 31 (1992) 759, décrit l'ancrage covalent d'anticorps sur un support en silice fonctionnalisé par des motifs photoactivables du type benzophénone. La fonctionnalisation (ou dérivatisation) des substrats en silice est réalisée à l'aide de 3-aminopropyltriéthoxysilane protégé par des groupements t-butyloxycarbonyl(Boc). Après déprotection du silane de surface, un ester N-hydroxysuccinimide de l'acide 3-benzoylbenzoïque est couplé au silane de surface. On dépose ensuite les anticorps à greffer sur le support et on expose ces derniers, au travers d'un masque, à un rayonnement lumineux qui activera dans les zones découvertes la liaison de l'immunoglobuline aux carbonyles des motifs benzophénones fixés sur le support.

La demande de brevet internationale PCT WO 92/10092 décrit une technique de synthèse in situ d'un réseau d'oligonucléotides sur un substrat silicium

silanisé à l'aide de 3-aminopropyltriéthoxysilane et protégé par un groupement photosensible du type 6-nitrovératryoxycarbonyl (NVOC). Selon cette technique on réalise une déprotection localisée du substrat par exposition à la lumière au travers d'un masque. La zone ou les zones déprotégées sont ensuite le siège de réactions de couplage chimique soit des nucléotides entre eux pour former des oligonucléotides soit des nucléotides avec le support pour fixer sur celui-ci des oligonucléotides synthétisés ex-situ à des nucléotides de tête dans le cadre de la synthèse in situ d'oligonucléotides.

Dans ces techniques photolithographiques de greffage de sondes sur support, on contrôle la répartition géométrique desdites sondes grâce à des photomasques mais les inconvénients majeurs de ces techniques résident dans l'absence de contrôle du dépôt des motifs photoactivables sur le support.

Une alternative à ces méthodes consiste à immobiliser des sondes de reconnaissance spécifique, par exemple de nature protéique, par électropolymérisation d'un monomère, en présence des sondes protéiques à immobiliser. Cela conduit à l'encagement des sondes protéiques dans des films polymères électrogénérés. La localisation des sondes peut être spatialement contrôlée grâce aux possibilités d'adressage électrochimique du film polymère qu'offre la méthode. A titre d'illustration, on peut citer l'article de Serge Cosnier (Can J. Chem. Eng., 76 (1998) 1000) qui concerne la fabrication de biocapteurs ampérométriques par encagement dans des films de polypyrrole fonctionnalisé. La procédure électrochimique d'immobilisation d'enzymes décrite dans cet article comprend deux étapes. La première consiste en l'adsorption d'un mélange aqueux d'enzyme et de pyrrole amphiphile sur une surface d'électrode et la seconde étape est l'électropolymérisation des monomères adsorbés.

L'encagement d'enzymes dans des électropolymères est également illustré par le brevet américain N° 5 286 364 qui divulgue l'électropolymérisation de 1,3-diaminobenzène et de résorcinol. L'enzyme immobilisée dans l'électropolymère généré de manière localisée, est la glucose-oxydase.

Cette technique d'encagement de substances sensibles (sondes) de nature protéique dans des films polymères électrogénérés, présente l'inconvénient de réduire radicalement l'accessibilité à la substance immobilisée. En particulier, les contraintes stériques générées par le polymère entourant les sondes protéiques ou oligonucléotidiques, peuvent entraver la formation des interactions spécifiques de reconnaissance du type antigène-anticorps, enzyme-substrat ou hybridation d'oligonucléotides complémentaires. Par conséquent, l'immobilisation électrochimique

de protéines ou d'oligonucléotides ne s'avère pas la méthode la plus appropriée pour la fabrication de biocapteurs.

Une approche légèrement différente consiste à électrogénérer un polymère comportant des groupements susceptibles de générer un couplage covalent avec une protéine. Ainsi des enzymes et des oligonucléotides ont pu être immobilisés sur des polypyrroles par greffage chimique. Toutefois, ces réactions chimiques peuvent dénaturer les substances sondes sensibles (protéines-polynucléotides).

Une stratégie plus prometteuse de fixation de sondes, par exemple protéiques ou oligonucléotidiques, sur des films électrogénérés, est l'immobilisation par l'intermédiaire de systèmes affins, qui préservent totalement l'activité biologique des protéines. Selon cette stratégie, on procède à l'électrogénération d'un film polymère fonctionnalisé par des motifs biotine. En raison des fortes interactions affines entre la biotine (poids moléculaire = 250 D) et l'avidine (poids moléculaire = 66 000 D) une monocouche d'avidine peut se former spontanément à la surface du polymère, par simple immersion du support, en l'occurrence du transducteur, dans une solution aqueuse d'avidine. La fixation ultérieure de sondes biotinylées (enzyme, anticorps, antigène, oligonucléotides, polyacide nucléique peptidique..) intervient également par simple immersion du support, en l'occurrence du transducteur, modifié par l'avidine, dans la solution aqueuse de substance sonde choisie, la constante d'association entre l'avidine et les motifs biotine étant : $K_a = 10^{15} M^{-1}$. L'immobilisation de sondes, par exemples protéiques, est ainsi réalisée par un ancrage non dénaturant conférant une accessibilité maximale à la protéine.

L'inconvénient majeur de cette méthode électroaffine est la nécessité d'utiliser des sondes, en particulier des protéines marquées par des fonctions biotine ou des sondes, en particulier des protéines, conjuguées à des avidines.

A titre d'illustration de ces techniques électroaffines, on renverra aux articles suivants:

- "Electrogeneration of biotinylated functionalized polypyrroles for the simple immobilization of enzymes" S. Cosnier, B. Galland, C. Gondran et A. Le Pellec, *Electroanalysis*, 10 (1998) 808.
- "Poly(pyrrole-biotine) : a new polymer for biomolecule grafting on electrode surfaces", S. Cosnier et A. Le Pellec, *Electrochim. Act*, 44 (1999) 1833.

On connaît également des électropolymères sur lesquels sont greffés chimiquement des substances sondes sensibles. Ces électropolymères porteurs de sondes greffées chimiquement ont vocation à être utilisés comme moyens d'immobilisation de sondes ou de marqueurs dans des biocapteurs.

C'est ainsi que la demande de brevet français N° 2 703 359 concerne un copolymère électrogéné du type polypyrrole dans lequel certains monomères pyrroles sont substitués par des chaînes latérales pendantes oligonucléotidiques, par l'intermédiaire de rotules d'espacement du type aminoéthyle.

- 5 La demande de brevet français N° 2 750 136 vise également des polypyrroles électrogénérés greffés, mais cette fois-ci les greffons oligonucléotidiques sont porteurs d'une molécule active (hormone : ACTH ou biotine).

La demande de brevet européen N° 314 009 divulgue des polymères électrogénérés du type polydithiénylpyrroles fonctionnalisés par des enzymes telles que la glucose-
10 oxydase. Le greffage du motif fonctionnalisé peut être réalisé par l'intermédiaire d'une amine (protégée ou non) portée par le noyau pyrrole.

La demande PCT WO 90/10 655 décrit des électropolymères du type polyacétylène-cis greffés par des enzymes du type glucose-oxydase, via des rotules d'espacement du genre benzoquinone hydroxylée. Cette demande PCT divulgue également des
15 polyanilines électrogénérées et fonctionnalisées par des indicateurs réactifs du type glucose-oxydase ou cofacteur correcteur enzymatique (FAD).

La demande de brevet français N° 2 720 832 est relative à des électropolymères du type polythiophène, polypyrrole, polyphénylène, polythiophène-vinylène, polyaniline, polyacétylène sur lesquels ont été greffés des peptides biologiquement actifs, en vue
20 d'une interaction spécifique avec des espèces chimiques ou biologiques d'intérêt biologique ou médical (hormones par exemple). Ce greffage est réalisé chimiquement par l'intermédiaire d'un bras espaceur acétyle relié à l'atome de carbone n° 3 du noyau pyrrole. Ces électropolymères greffés peuvent être utilisés comme membranes électroactives dans des biocapteurs.

25 Tous ces électropolymères connus sur lesquels sont greffées chimiquement des molécules sondes sensibles, ont précisément l'inconvénient d'être obtenus par des procédés chimiques susceptibles d'altérer les molécules sondes à greffer. Par ailleurs, il est difficile dans ces procédés de contrôler la localisation des greffons. En conséquence, il n'est pas possible de réaliser des réseaux organisés de sondes
30 différentes de reconnaissance spécifique, intégrables dans des biocapteurs.

Le bilan qui s'impose à l'issue de cette revue de l'état de la technique est donc qu'il existe toujours un besoin aigu en un support polymère susceptible de constituer la membrane sensible de biocapteurs, sachant que les spécifications recherchées pour cette membrane (ou ce revêtement sensible) sont :

- 35 - de pouvoir être porteuse de sondes sensibles de reconnaissance spécifique immobilisées de manière fiable et durable,

- de faire intervenir un mode d'immobilisation des sondes sensibles qui ne porte pas préjudice à leur capacité d'interagir spécifiquement avec les molécules cibles à analyser,
- d'être porteuse de sondes sensibles (par exemple protéines, oligonucléotides, polyacides nucléique peptidique.....) qui ne soient pas dénaturées lors de l'immobilisation,
- d'offrir la possibilité de contrôler aisément la localisation des sondes de façon à pouvoir réaliser des réseaux de sondes,
- de pouvoir être obtenue de manière simple et économique de façon à pouvoir être industrialisable.

L'un des objectifs essentiels de la présente invention est de pallier ces carences en fournissant de nouveaux polymères sur lesquels peuvent être greffés aisément des sondes de reconnaissance spécifique, non dénaturées, ayant une capacité optimale de réaction avec les analytes cibles et dont la localisation soit contrôlable, ces nouveaux polymères se devant également d'être d'un coût de revient modéré.

Un autre objectif essentiel de l'invention est de fournir de nouveaux moyens d'immobilisation de sondes spécifiques du type peptide polynucléotide, polyacide nucléique peptidique....., permettant une immobilisation stable, économique, non dénaturante et spatialement contrôlée des sondes.

Un autre objectif essentiel de l'invention est de fournir des procédés de préparation des électropolymères susvisés qui sont susceptibles de constituer un support d'immobilisation adapté pour sondes de reconnaissance spécifique pour (micro)biocapteurs électroniques.

Un autre objectif essentiel de l'invention est de fournir de nouveaux monomères à partir desquels les polymères susvisés sont susceptibles d'être obtenus.

Un autre objectif essentiel de l'invention est de proposer un procédé de fabrication de biocapteur faisant intervenir la préparation des électropolymères susévoqués.

Un autre objectif essentiel de l'invention est de fournir un biocapteur électronique dont la membrane sensible est constituée par les polymères susvisés sur lesquels sont greffés des sondes de reconnaissance spécifique.

Ces objectifs, parmi d'autres, sont atteints par la présente invention qui concerne en premier lieu de nouveaux polymères obtenus par électropolymérisation et caractérisés en ce qu'ils comprennent des motifs photoactivables.

Les électropolymères selon l'invention peuvent être préparés rapidement et aisément sous forme de films, en contrôlant de manière précise l'épaisseur du film par l'intermédiaire de la charge électrique mise en œuvre. Ces électropolymères

peuvent être déposés sur toutes sortes de supports et en particulier sur de petites surfaces d'électrodes à géométrie complexe.

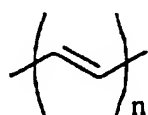
Plus précisément au sens de l'invention, les électropolymères sont des films polymères organiques obtenus par oxydation ou réduction électrochimique, à la surface d'une électrode, de monomères soit adsorbés sur cette surface soit solubilisés dans un milieu électrolytique aqueux ou organique.

Suivant une caractéristique préférée de l'invention, ces polymères photogreffables sont choisis :

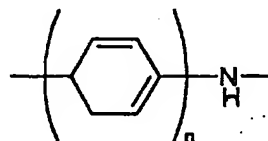
□ dans le groupe des polymères électrogénérés conducteurs, de préférence dans le sous-groupe comprenant : les polyacétylènes, les polyazines, la poly(p-phénylène vinylidène), les poly(p-phénylène), les polypyrrènes, les polyfurannes, les polysélénophènes, les polypyridozines, les polycarbazoles, les polypyrroles, les polythiophènes, les polyindoles, les polyanilines et leurs copolymères

□ et/ou dans le groupe des polymères électrogénérés isolants, de préférence dans le sous-groupe comprenant : les polyphénols, les poly(thiophénylènediamines), les poly(dichlorophénolindophénol) et leurs copolymères.

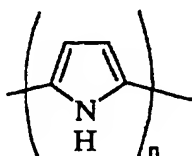
Les formules générales du polyacétylène, du polypyrrole, du polythiophène, de la polyaniline et du polyindole sont données ci-après.



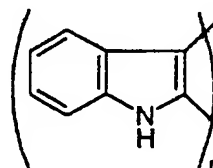
polyacétylène



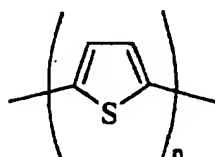
polyaniline



polypyrrole



polyindole



polythiophène

Les électropolymères ne peuvent se former que sur des surfaces conductrices ou des semi-conducteurs capables de véhiculer la charge électrique nécessaire à la polymérisation. Cette caractéristique permet d'envisager un adressage électrochimique. Cela signifie qu'en alimentant en courant électrique certaines zones
5 du support conducteur, de préférence à d'autres, on peut circonscrire la formation du polymère dans ces zones alimentées et obtenir ainsi des zones différenciées et indépendantes porteuses chacune d'une sonde photogreffée donnée.

Les électropolymères photogreffables selon l'invention sont propres à se lier de manière simple, économique, reproductible et spatialement contrôlée à des
10 sondes de reconnaissance spécifique, qui peuvent être des protéines, des polynucléotides, des polyacides nucléiques peptidiques ou analogues.

Une telle immobilisation par photogreffage permet de s'affranchir du recours à des réactifs chimiques éventuellement dénaturants. De plus, la technique est simple car les sondes n'ont pas besoin d'être prétraitées ou fonctionnalisées pour pouvoir être
15 greffées. Enfin, le greffage peut s'opérer de manière précise et rapide, à l'aide de photomasques.

A propos des motifs photoactivables des électropolymères selon l'invention, il convient de signaler que lesdits motifs sont, de préférence, sélectionnés dans le groupe comprenant : les diazoniums, les phénylazides, les azobenzènes, les
20 dérivés de benzophénone et les associations de ces motifs.

Conformément à l'invention, la benzophénone est un motif photoactivable particulièrement préféré.

De manière plus générale, on entend au sens de l'invention par motif photoactivable : un groupement chimique qui, sous irradiation, est converti en un composé hautement
25 réactif susceptible de former une liaison covalente avec d'autres composés en solution en milieu soit organique soit aqueux.

Le taux de motifs photoactivables des électropolymères selon l'invention est un paramètre qui permet de les caractériser.

Ainsi, il est particulièrement avantageux que, selon l'invention, au moins 0,01 % en
30 nombre de ses (co)monomères constitutifs, de préférence au moins 10 % en nombre de ses (co)monomères constitutifs, et plus préférentiellement encore chacun de ses comonomères constitutifs, est (sont) porteur(s) d'au moins un motif photoactivable.

Naturellement, les électropolymères selon l'invention peuvent être soit des homopolymères soit des copolymères.

35 Ces copolymères peuvent être de type bloc ou de type statistique.

Selon une caractéristique avantageuse de l'invention, les électropolymères photogreffables qu'elle concerne ont un degré de polymérisation DP_n compris entre

200 et 10^7 , de préférence compris entre 10^3 et 10^7 et plus préférentiellement encore entre 10^4 et 10^7 .

Ces électropolymères peuvent également être définis par le nombre de molécules monomériques immobilisées par unité de surface, qui est de préférence
5 compris entre 10^{-11} et 10^{-6} mole. cm^{-2} et, plus préférentiellement encore, entre 5×10^{-9} et 10^{-8} mole. cm^{-2} ; l'épaisseur du film polymère à 10^{-6} mole. cm^{-2} est comprise entre 0,2 et 2 μm .

Les propriétés électrochimiques des polymères selon l'invention sont un autre moyen pour les définir. C'est ainsi que par voltamétrie cyclique, on observe pour
10 les électropolymères selon l'invention, un signal réversible caractéristique d'un système rédox, d'une valeur de la tension avantageusement inférieure ou égale à 0 volt, de préférence inférieure ou égale à -1 volt et plus préférentiellement encore comprise entre -1,5 et -2,5 volts. Ce signal est dû à la présence du motif photoactivable. De plus, ces polymères peuvent être des polymères conducteurs électroniques; dans ce
15 cas la quantité de polymère électrogénéré sur un support conducteur pourra être déterminée via l'intégration de la charge électrique correspondant à l'électroactivité du polymère dans la zone de potentiel comprise entre -1V et +1V.

La mesure de voltamétrie est réalisée par balayage de potentiel entre les valeurs limites de e.g. : 0 et - 2,5 volts. Le milieu liquide conducteur de mesure est, par
20 exemple, constitué par $\text{CH}_3\text{CN} + \text{TBAP } 0,1\text{M}$. La mesure de tension est réalisée par référence à un système $\text{Ag}/\text{Ag}^+ 10\text{mM}$ dans CH_3CN .

Selon un mode préféré de réalisation de l'invention les électropolymères qu'elle concerne, sont porteurs sur chacun de leurs monomères constitutifs d'un motif photoactivable.

25 Les motifs photoactivables peuvent être identiques ou différents entre eux sur une même chaîne polymère et/ou d'une chaîne polymère à l'autre. Conformément au mode préféré de réalisation, les motifs photoactivables sont identiques sur toutes les chaînes polymères.

En dessous d'un DP_n de l'ordre de 50, les électropolymères selon
30 l'invention sont de préférence dénommés "oligomères."

S'agissant de leur préparation, le procédé préféré conformément à l'invention est caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement :

- à mettre en œuvre au moins un type de monomères électropolymérisables ;
- 35 - à fixer sur au moins une partie des (co)monomères mis en œuvre, au moins un motif photoactivable par (co)monomère ;

- à électropolymériser les (co)monomères, cette électropolymérisation étant de préférence réalisée sur un support conducteur en soumettant les (co)monomères à un balayage potentiel et/ou à une électrolyse à potentiel imposé (chronoampérométrie) ou à courant constant (chronopotentiométrie).

5

Selon que l'on souhaite obtenir des homo ou des copolymères, on utilisera des monomères identiques entre eux ou des comonomères appartenant au moins à deux espèces différentes.

10 Dans un mode particulièrement préféré de préparation l'électropolymérisation des monomères ou des comonomères fonctionnalisés ou non par au moins un motif photoactivable, est effectuée sur un support conducteur de manière à former un film d'électropolymère sur toute la zone soumise au champ électrique.

Il est parfaitement envisageable, pour un support d'électropolymérisation donné, de n'alimenter en courant électrique que certaines zones sélectionnées du support
15 conducteur. On réalise ainsi un adressage électrochimique qui permet de localiser l'électropolymère photogreffable à des endroits bien précis.

Avantageusement, les (co)monomères copolymérisables mis en œuvre sont choisis :

20 ☐ dans le sous-groupe des (co)monomères conducteurs comprenant :

-l'acétylène, les pyrroles, les thiophènes, les indoles, les anilines, les azines, les p-phénylènevinylènes, les p-phénylènes, les pyrènes, les furanes, les sélénophènes, les pyridazines, les carbazoles et leurs mélanges,

25 ☐ et/ou dans le sous groupe des (co)monomères isolants comprenant les phénols, les ortho-phénylènediamine, les dichlorophénolindophénol et leurs mélanges.

30 Avantageusement, les motifs photoactivables sont sélectionnés dans le groupe comprenant les diazoniums, les phénylazides, les azobenzènes, les dérivés de benzophénone et les associations de ces motifs.

Sur le plan de la méthodologie, plusieurs procédures son envisageables conformément à l'invention. Ainsi, l'étape de greffage intervient avant ou pendant et ou après l'étape d'électropolymérisation.

35 Dans le mode préféré de mise en œuvre du procédé, on effectue la substitution des motifs photoactivables sur tous les monomères de départ avant d'engager l'électropolymérisation. Cette dernière implique donc des (co)monomères conjugués chacun à au moins un motif, de préférence un motif photoactivable.

Selon une variante, on pourrait réaliser l'électropolymérisation des monomères non substitués par les motifs photoactivables et ne faire intervenir cette substitution que sur le polymère fini.

Naturellement, les deux variantes sus évoquées sont combinables.

- 5 La solution qui consisterait à réaliser simultanément l'électropolymérisation et la substitution des motifs photoactivables n'est certes pas la préférée mais néanmoins ne peut être exclue de l'invention.

L'électropolymérisation est, de préférence, réalisée à partir de monomères, mais il peut être également envisagé d'utiliser des oligomères fonctionnalisés ou non
10 par des motifs photoactivables, en tant que produits de départ de l'électropolymérisation, en combinaison ou non avec des monomères (co)monomères.

L'électropolymérisation est avantageusement réalisée, en pratique, dans des conditions de pression et de température ambiante.

Le support mis en œuvre peut être par exemple : des électrodes
15 métalliques (or, platine, acier inoxydable), des électrodes de carbone vitreux ou de graphite, des électrodes transparentes (verre ou quartz recouvert d'un film d'or, de TiO_2 ou de SnO_2) des électrodes volumiques telles que des feutres de carbone, des poudres de carbone ou de graphite, des toiles tissées de métaux comme par exemple des aciers inoxydables, des gels nanoporeux de TiO_2 .

- 20 Un milieu liquide constitué par une solution, une suspension ou une émulsion de (co)monomères[voire d'oligomères] en phase aqueuse ou organique, est versé sur le support. On soumet ensuite ce dernier à des balayages répétitifs de potentiel (par exemple entre - 0,5 V et 1,2 V). Les zones du support ainsi alimentées sont le siège de la formation en surface d'un film d'électropolymère.

- 25 La présence du film d'électropolymère peut être caractérisée par voltamétrie cyclique. L'électropolymère obtenu est substitué par des motifs photoactivables aptes à permettre le photogreffage de biomolécules sensibles ou sondes de reconnaissance spécifique notamment par interaction affine. Le taux de substitution de l'électropolymère en motifs photoactivables permettant le photoancrage est compris
30 entre 0,01 et 100 %.

Selon un autre de ses aspects, l'invention concerne, à titre de produit industriel nouveau, un monomère susceptible d'entrer dans la constitution des électropolymères sus décrits et/ou d'être utilisé dans le procédé de préparation de ces électropolymères. Ce nouveau monomère est caractérisé en ce qu'il comprend au
35 moins une entité électropolymérisable et au moins un motif photoactivable.

L'entité électropolymérisable est sélectionnée :

- dans le sous-groupe des (co)monomères conducteurs comprenant :

- l'acétylène, les pyrroles, les thiophènes, les indoles, les anilines, les azines, les p-phénylènevinylènes, les p-phénylènes, les pyrènes, les furanes, les sélénophènes, les pyridazines, les carbazoles et leurs mélanges,

5 • et/ou dans le sous groupe des (co)monomères isolants comprenant les phénols, les ortho-phénylènediamine, les dichlorophénolindophénol et leurs mélanges.

Avantageusement, le motif photoactivable appartient au groupe comprenant : les diazoniums, les phénylazides, les azobenzènes, les dérivés de benzophénone et les associations de ces motifs.

10 La présente invention vise également à titre de produit industriel nouveau des oligomères susceptibles d'être utilisés, notamment dans le procédé tel que décrit ci-dessus, et caractérisés en ce qu'ils comportent un ou plusieurs monomères tels que décrit dans le paragraphe précédent.

Les électropolymères, (co)monomères et les oligomères présentés supra et
15 ayant la propriété d'être photogreffables constituent d'autres objets nouveaux et inventifs lorsqu'ils portent des éléments photogreffés par l'intermédiaire de leurs motifs photoactivables. D'où il s'ensuit que l'invention concerne des polymères monomères et oligomères caractérisés en ce qu'ils comprennent des substituants photogreffés obtenus par réaction d'une ou plusieurs substances avec leurs motifs
20 photoactivables, ces substances étant de préférence choisies parmi les (macro)molécules biologiques et/ou les chimères de celles-ci et/ou parmi les unités de ces (macro)molécules et/ou de ces chimères.

A titre d'exemple de substances photogreffées on peut citer les acides aminés, les oligo peptides, les poly-peptides, les protéines, les gluco-protéines, les lipoprotéines
25 ou bien encore les nucléotides et oligonucléotides, les polynucléotides type ARN ou ADN, d'origine biologique ou synthétique, des enzymes, des coenzymes et des vitamines.

Comme exemples de chimères de biomolécules on peut citer les (poly)Acides Nucléiques Peptidiques, des sites prosthétiques d'enzymes tels que des
30 métalloporphyrines, des isobactérochlorines, des corrines, des chlorins, des anticorps artificiels à base par exemple de polymère à empreinte.

Selon encore un autre de ses aspects, la présente invention concerne un procédé de fabrication de biocapteurs électroniques du type de ceux comprenant au moins un (micro)transducteur comportant au moins une membrane sensible porteuse
35 de sondes de reconnaissance spécifiques de molécules cibles à analyser, caractérisé en ce que l'on réalise la membrane sensible fixée sur le support transducteur à partir d'au moins un polymère tel que décrit supra et en ce que l'on greffe (de préférence de

manière localisée), les sondes de reconnaissance spécifique sur les motifs photoactivables du polymère par photoactivation.

Ces biocapteurs ou ces éléments de biocapteurs peuvent être des (micro)électrodes, des dispositifs semi-conducteurs tels que des transistors effet de champ ou bien encore des réseaux de microélectrodes interdigitées, des quartz de
5 microbalance, des fibres de carbone ou de graphite micrométrique et nanométriques, des fibres optiques recouvertes d'un film conducteur.

Ces (micro)conducteurs sont aptes à servir de support à la croissance des électropolymères photogreffables selon l'invention. Dès lors que l'électropolymère est
10 formé sur le microtransducteur dans les endroits souhaités, on met en œuvre le photogreffage. A cette fin, on irradie le film électropolymère e. g. à l'aide d'une lampe par exemple à 300-400 nm (selon le motif photoactivable considéré), en présence de molécules ou biomolécules à greffer (sondes de reconnaissance spécifique). Ces molécules ou biomolécules à greffer sont mises en œuvre sous forme de suspension,
15 dispersion ou en solution dans un milieu organique ou aqueux, d'émulsion ou solubilisées dans des micelles ou des micelles inverses.

Les dispositifs d'irradiation sont des moyens connus en eux-mêmes. Il est ainsi parfaitement envisageable de réaliser l'irradiation en continu dans un tunnel à l'échelle industrielle.

La présente invention concerne enfin un biocapteur électronique du type
20 de ceux comprenant au moins un (micro)transducteur comportant au moins une membrane sensible porteuse de sondes de reconnaissance spécifique caractérisé en ce que la membrane sensible comprend au moins un polymère tel que décrit supra, sur lequel sont photogreffés (de préférence de manière localisée), des substituants qui
25 correspondent aux sondes de reconnaissance spécifique.

Les microtransducteurs sur lesquels peuvent être immobilisées des biomolécules grâce aux électropolymères selon l'invention, peuvent être des microélectrodes, des microélectrodes interdigitées, des transistors à effet de champ, des biopuces notamment pour le séquençage de l'ADN et de l'ARN ou des
30 protéines.....

Ces biopuces peuvent se présenter sous forme de réseaux matriciels de sondes de reconnaissance spécifique constituées par exemple par des oligonucléotides fixés de manière localisée sur des structures isolant/semi-conducteur, fonctionnant sur le principe de l'effet de champ, par exemple.

La technologie selon l'invention est particulièrement adaptée à la fabrication de ce
35 type de capteurs grâce à ces capacités de contrôle spatial de la fixation des sondes par

A titre d'autres exemples de biocapteurs on peut citer les immunocapteurs à lecture optique ou électrique mais également les microbalances à quartz.

10

Description des figures

15

La Fig. 3 est une courbe de voltamétrie cyclique obtenue sur l'électrode revêtue de l'électropolymère photogreffable poly(pyrrole-benzophénone) obtenu à l'exemple 2.

20

La Fig. 4 montre 2 courbes représentant la variation de la fréquence F (Hz) en fonction du temps t (Δ), cette variation résultant de l'immobilisation d'avidine (exemple 3.2) sur des quartz de microbalance modifiés par des films de poly(pyrrole-benzophénone) et préalablement mis en contact avec une solution aqueuse de biotine avec irradiation (—) et sans irradiation (---).

25

EXEMPLE 1 - PREPARATION DES MONOMERES CONJUGUES AUX MOTIFS PHOTOACTIVABLES

1.1 - Monomère pyrrole benzophénone



Ce monomère est préparé comme indiqué ci-après :

Réaction du pyrrole alcool avec de l'acide 3-benzoyl-benzoïque en présence de DMAP.

Selon un mode de réalisation actuellement préféré, on mettra à réagir de l'acide 3-benzoylbenzoïque avec le 3-pyrrole-1-propanol en présence d'une quantité catalytique de diméthylaminopyrrolidine ou DMAP et de préférence en présence d'un agent activateur tel que la dicyclohexylcarbodiimine.

La réaction de synthèse est en pratique la suivante :

425 mg d'acide 3-benzoylbenzoïque (2 mmoles) et 413 mg de dicyclohexylcarbodiimine (2 mmoles) sont dissous dans 20 ml de dichlorométhane et laissés sous agitation durant 5 min. On ajoute ensuite 208 mg de 3-pyrrole-1-propanol (1,66 mmole) au mélange réactionnel et on laisse réagir pendant 5 min sous agitation. On ajoute ensuite une quantité catalytique de diméthylaminopyrrolidine ou DMAP (81 mg, 0,66 mmole). On maintient le mélange réactionnel à 20°C environ sous agitation pendant 48 heures.

Après ajout d'eau et extraction au dichlorométhane, la solution organique est évaporée sous pression réduite.

Le résidu est alors dissous dans l'éther éthylique et la solution obtenue est filtrée afin d'éliminer les produits insolubles. Après évaporation du solvant, le produit est chromatographié sur une colonne de silice avec comme éluant le dichlorométhane.

Le dérivé pyrrolique de la benzophénone est alors obtenu sous forme d'une huile quasi-limpide avec un rendement d'environ 61 %.

Après chromatographie, la pureté du pyrrole-benzophénone a été confirmée par RMN et spectre de masse. H RMN (CDCl_3) δ (ppm) 2,20 (m, 2H), 4,1 (t, 2H), 4,29 (t, 2H), 6,10 (t, 2H), 6,60 (t, 2H), 7,52 (m, 4H), 7,80 (d, 2H), 7,98 (d, 1H), 8,22 (d, 1H), 8,40 (s, 1H).

Spectrométrie de masse par impact électronique : 333 (100 %), 209 (14 %), 152 (11 %), 124 (21 %).

Les propriétés électrochimiques de ce produit ont été analysées par voltamétrie cyclique.

Comme l'indique la Fig. 1 annexée ci-dessus, le pyrrole benzophénone s'oxyde irréversiblement à 1,06 V vs Ag/Ag^+ 10 mM dans CH_3CN . L'oxydation irréversible de ce monomère consiste en la formation d'un pyrrole radical cation, 1^{ère} étape d'un phénomène de polymérisation conduisant au polypyrrole.

Ces radicaux pyrroliques se couplent entre eux donnant des liaisons covalentes et libérant des protons dans le milieu électrolytique. Cette libération de protons est illustrée lors du balayage retour par l'apparition d'un pic cathodique

irréversible à environ - 200 mV (Fig. 1). Ce pic correspond à la réduction, à la surface de l'électrode de platine, des protons libérés lors du phénomène de polymérisation des pyrrole-benzophénone. Après couplage de deux radicaux pyrroliques et perte de deux protons conduisant à la réaromatisation du dimère, ce dernier peut réagir de manière équivalente avec un radical cation du pyrrole-benzophénone. Par propagation électrochimique continue, une chaîne polypyrrolique est ainsi générée conduisant à un polymère insoluble. En milieu aprotique, le radical anion de la benzophénone étant stable, la benzophénone peut se réduire réversiblement à 1 électron. Effectivement, dans le domaine cathodique, un signal réversible à - 1,96 V (Fig. 1) correspondant à la réduction monoélectronique du pyrrole-benzophénone est observé.

EXEMPLE 2 - ELECTROPOLYMERISATION

2.1 -Obtention poly(pyrrole benzophénone)

Des balayages répétitifs de potentiel entre 0 et 0,86 V entraînent la formation d'un film pyrrolique à la surface de l'électrode. Cette formation est illustrée par l'apparition et la croissance d'un système rédox à + 0,32 V caractéristique de l'électroactivité des chaînes polypyrroliques (cf Fig. 2 Electropolymérisation du pyrrole benzophénone 3,6 mM dans CH₃CN + 0,1 M TBAP).

Après transfert de l'électrode dans une solution d'électrolyte exempte de monomère, le voltamogramme de cette électrode présente l'électroactivité classique des films polypyrroliques dans le domaine anodique. De plus, le signal réversible de la réduction des motifs benzophénone à $E_{1/2} = - 1,96$ V confirme la présence d'un film polymère à la surface de l'électrode (cf. Fig. 3 : Voltamétrie cyclique de l'électrode après polymérisation) ainsi que la présence des motifs photoactivables dans ce polymère.

EXEMPLE 3 - PHOTOGREFFAGE DE BIOMOLECULES SUR LES ELECTROPOLYMERES PHOTOGREFFABLES DE L'EXEMPLE 2

3.1 - Poly(pyrrole benzophénone) - ASB

L'irradiation d'un film de poly (p-pyrrole benzophénone) entraîne, en voltamétrie cyclique, une forte diminution (-54%) de l'intensité du système rédox à -2 V relatif à la fonction benzophénone. ce phénomène illustre la disparition de la fonction cétone et donc la réactivité de ce groupement sous irradiation.

Les macromolécules biologiques étant solubles quasi exclusivement en milieu aqueux, l'efficacité du greffage par irradiation a été testée en milieu aqueux.

Dans ce but, on utilise dans un premier temps l'albumine de sérum bovin (ASB) comme protéine modèle. Des électrodes modifiées ont été plongées dans une solution aqueuse de cette protéine et irradiées sous atmosphère inerte (Argon).

5 Afin de détecter l'immobilisation de protéines à la surface du film, ces électrodes ont été transférées dans un électrolyte organique et la perméabilité du film a été testée à l'aide d'une sonde électroactive (ferrocène). Une diminution de 25% vis-à-vis de la perméabilité initiale apparaît confirmant le greffage de protéine. Il faut également remarquer que cette diminution n'est pas due à une simple adsorption de la protéine à la surface du film. En effet, la même expérience réalisée sans irradiation
10 n'entraîne qu'une perte de 9 % de la perméabilité du film.

3.2 - Poly(pyrrole benzophénone) - enzyme

Pour confirmer ces possibilités de greffage, l'irradiation des électrodes
15 modifiées a été réalisée en présence d'une protéine biologiquement active : une enzyme. Cette enzyme, la glucose oxydase, catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique en présence de dioxygène qui lui est réduit en H_2O_2 .

Comme H_2O_2 s'oxyde électrochimiquement au potentiel de 0,6 V versus ECS sur une électrode de platine, cette réaction enzymatique peut être suivie par un
20 signal électrique. Par conséquent, après irradiation, l'électrode modifiée est transférée dans une solution aqueuse et maintenue au potentiel de 0,6 V vs ECS. En présence de glucose, l'enzyme forme H_2O_2 qui, à ce potentiel, est oxydé à la surface de l'électrode de platine, générant ainsi un courant électrique.

La réponse ampérométrique de l'électrode à des ajouts de glucose
25 démontre tout d'abord la possibilité de photogreffer une enzyme sur ce type de polymère tout en conservant son activité biocatalytique vis à vis de ses substrats. Cette réponse permet également d'établir une courbe de calibration du glucose dont la pente de la partie linéaire $I(\text{intensité}) = f(\text{concentration en glucose})$ indique la sensibilité du capteur : $3,37 \text{ mA} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$.

30 La même expérience réalisée sans irradiation démontre que l'enzyme peut s'adsorber sur le film polymère mais la sensibilité au glucose obtenue ($0,56 \text{ mA} \cdot \text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$) est nettement inférieure à la précédente. Ceci confirme le greffage de l'enzyme sous irradiation du film de poly (pyrrole benzophénone).

3.3 - Poly (pyrrole benzophénone) - biotine

L'efficacité du photogreffage et l'accessibilité de la biomolécule immobilisée à la surface du polymère ont été examinées par des mesures gravimétriques avec le système affin avidine-biotine.

Des électrodes d'or recouvrant des quartz de microbalance ont été modifiées par un film de poly (pyrrole benzophénone). Deux quartz modifiés ont été mis en contact avec une solution aqueuse de biotine, l'un étant irradié et l'autre pas. En raison des fortes interactions affines entre la biotine (une vitamine, PM 250) et l'avidine (une protéine, PM 66000), l'association avidine-biotine s'effectue spontanément. Les mesures gravimétriques, en présence d'une solution d'avidine (0,5 mg/ml), indiquent une diminution de fréquence de 200 Hz et 70 Hz pour respectivement le polymère irradié et le polymère non irradié (voir Figure 4). Ceci correspond à un accroissement de masse à la surface du polymère de 358 ng cm⁻² dans le cas de l'irradiation et de 125 ng cm⁻² en absence d'irradiation.

Or l'immobilisation d'une monocouche compacte d'avidine correspond théoriquement à un accroissement de masse de 362 ng cm⁻². Il apparaît donc que l'irradiation induit le greffage efficace de biotine à la surface du polymère entraînant un recouvrement total de ce dernier par une monocouche d'avidine. En l'absence d'irradiation et donc de photogreffage de biotine, uniquement 34 % de la surface du polymère est recouverte d'avidine.

Ces résultats démontrent également que la biotine greffée conserve ses propriétés de reconnaissance vis à vis de l'avidine et conserve donc une excellente accessibilité.

REVENDICATIONS

1 - Polymères obtenus par électropolymérisation caractérisés en ce qu'ils comprennent des motifs photoactivables.

2 - Polymères selon la revendication 1, caractérisés en ce qu'ils sont choisis :

□ dans le groupe des polymères électrogénérés conducteurs, de préférence dans le sous-groupe comprenant : les polyacétylènes, les polyazines, la poly(p-phénylène vinylidène), les poly(p-phénylène), les polypyrrènes, les polyfurannes, les polysélénophènes, les polypyridozines, les polycarbazoles, les polypyrroles, les polythiophènes, les polyindoles, les polyanilines et leurs copolymères

□ et/ou dans le groupe des polymères électrogénés isolants, de préférence dans le sous-groupe comprenant les polyphénols, les poly(thiophénylènediamines), les poly(dichlorophénolindophénol) et leurs copolymères.

3 - Polymères selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce que les motifs photoactivables sont sélectionnés dans le groupe comprenant : les diazoniums, les phénylazides, les azobenzènes, les dérivés de benzophénone, et les associations de ces motifs.

4 - Polymères selon l'une quelconque des revendication 1 à 3, caractérisé en ce qu'au moins 0,01 % en nombre de ses (co)monomères constitutifs, de préférence au moins 10 % en nombre de ses (co)monomères constitutifs, et plus préférentiellement encore chacun de ses comonomères constitutifs, est (sont) porteur(s) d'au moins un motif photoactivable.

5 - Procédé de préparation des polymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il consiste essentiellement :

- à mettre en œuvre au moins un type de monomères électropolymérisables ;
- à fixer sur au moins une partie des (co)monomères mis en œuvre, au moins un motif photoactivable par (co)monomère ;
- à électropolymériser les (co)monomères, cette électropolymérisation étant de préférence réalisée sur un support conducteur en soumettant les (co)monomères à un balayage potentiel et/ou à une électrolyse à potentiel imposé ou à courant constant.

6 - Procédé selon la revendication 5, caractérisé

• en ce que les (co)monomères conducteurs électropolymérisables sont choisis :

□ dans le sous-groupe des (co)monomères conducteurs comprenant :

- l'acétylène, les pyrroles, les thiophènes, les indoles, les anilines, les azines, les p-phénylènevinylènes, les p-phénylènes, les pyrènes, les furanes, les sélénophènes, les pyridazines, les carbazoles et leurs mélanges,
- 5 ☐ et/ou dans le sous groupe des (co)monomères isolants comprenant les phénols, les ortho-phénylènediamine, les dichlorophénolindophénol et leurs mélanges,
- ☐ et en ce que les motifs photoactivables sont sélectionnés dans le groupe comprenant : les diazoniums, les phénylazides, les azobenzènes, les dérivés de benzophénone et les associations de
10 ces motifs.

7 - Procédé selon la revendication 5 ou la revendication 6, caractérisé en ce que l'étape de greffage intervient avant et/ou pendant et/ou après l'étape d'électropolymérisation.

- 15 8 - Monomère susceptible d'être utilisé notamment dans la préparation des polymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, ou dans le procédé selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, caractérisé en ce qu'il comprend au moins une entité électropolymérisable et au moins un motif photoactivable, en particulier tel que défini respectivement à la revendication 2 et/ou à la revendication 3, ce
20 monomère étant de préférence le monomère pyrrole benzophénone.

9 - Oligomère, susceptible d'être utilisé notamment dans la préparation des polymères selon l'une des revendications 1 à 4, ou dans le procédé selon l'une quelconque des revendications 5 à 7, caractérisé en ce qu'il comporte plusieurs monomères selon la revendication 8.

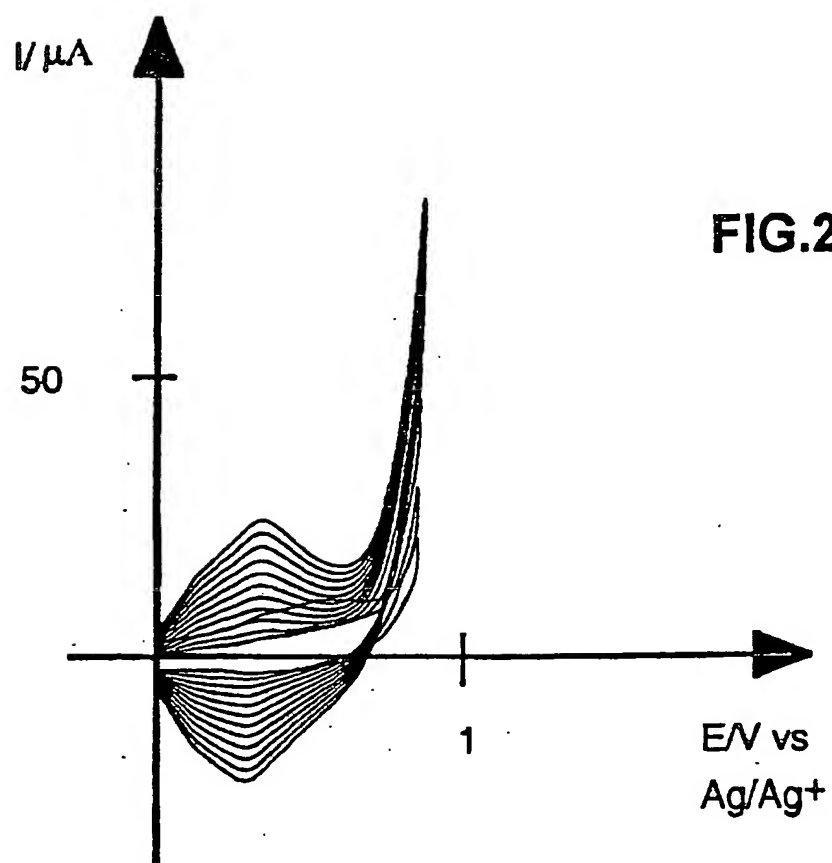
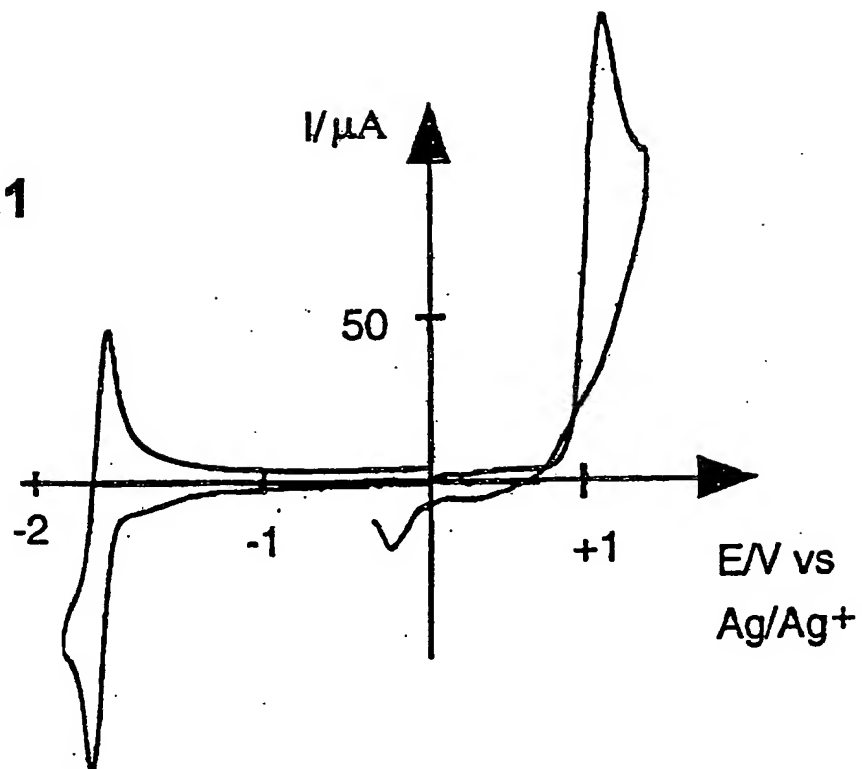
- 25 10 - Polymères selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, monomères selon la revendication 8, ou oligomères selon la revendication 9, caractérisés en ce qu'ils comprennent des substituants photogreffés obtenus par réaction d'une ou plusieurs substances avec leurs motifs photoactivables, ces substances étant, de préférence, choisies parmi les (macro)molécules biologiques
30 et/ou les chimères de celles-ci et/ou parmi les unités de ces (macro)molécules et/ou de ces chimères.

- 11 - Procédé de fabrication de biocapteurs électroniques du type de ceux comprenant au moins un (micro)transducteur comportant au moins une membrane sensible porteuse de sondes de reconnaissance spécifique de molécules cibles à
35 analyser, caractérisé en ce que l'on réalise la membrane sensible fixée sur le support transducteur à partir d'au moins un polymère selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, et en ce que l'on greffe (de préférence de manière localisée), les

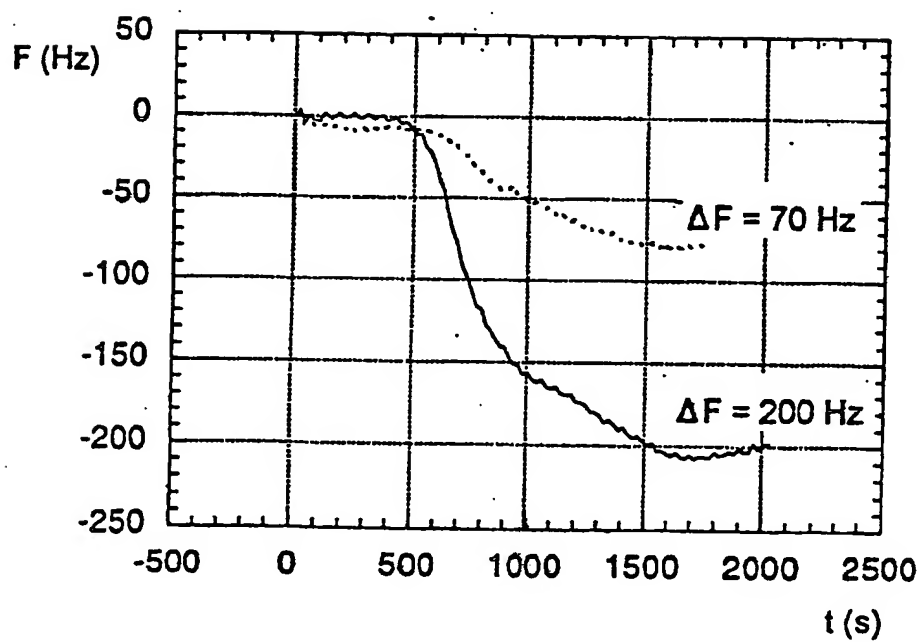
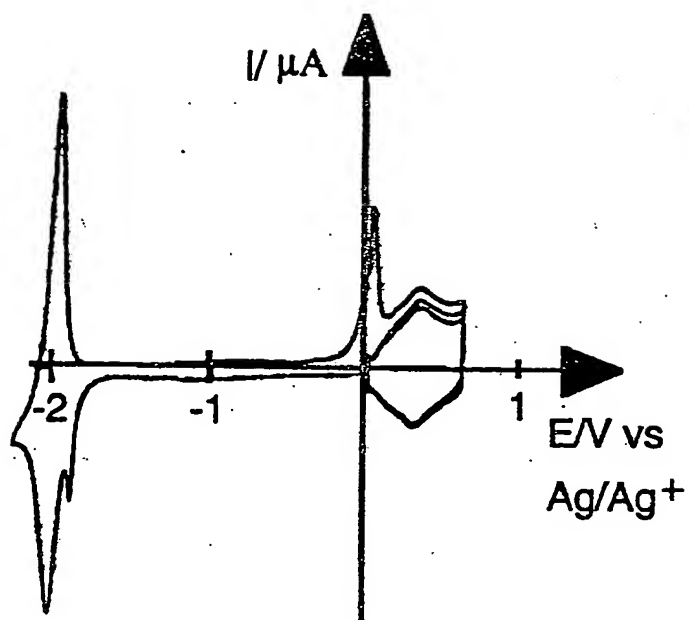
sondes de reconnaissance spécifique sur les motifs photoactivables du polymère par photoactivation.

- 12 - Biocapteur électronique du type de ceux comprenant au moins un (micro)transducteur comportant au moins une membrane sensible porteuse de sondes de reconnaissance spécifique caractérisé en ce que la membrane sensible comprend au moins un polymère selon la revendication 10, sur lequel sont photogreffés (de préférence de manière localisée), des substituants qui correspondent aux sondes de reconnaissance spécifique.

1/2

FIG.1

2 / 2



INSTITUT NATIONAL

de la

PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIREétabli sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la rechercheN° d'enregistrement
nationalFA 580203
FR 9915022

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 199047 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A26, AN 1990-352848 XP002139597 & JP 02 255716 A (RICOH KK), 16 octobre 1990 (1990-10-16) * abrégé *</p>	1-3
A	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 199520 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A26, AN 1995-151827 XP002139598 & JP 07 076572 A (OSAKA GAS CO LTD), 20 mars 1995 (1995-03-20) * abrégé *</p>	
D,A	<p>WO 90 10655 A (ALLAGE ASSOCIATES INC) 20 septembre 1990 (1990-09-20) * revendications 1,2,13,14 *</p>	1
D,A	<p>WO 95 29199 A (BIO MERIEUX ; GARNIER FRANCIS (FR)) 2 novembre 1995 (1995-11-02) * revendications 1,2 *</p>	1
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.7)
		C08G H01B C12Q
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
6 juin 2000		Niaounakis, M
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.